DOI:10.11931/guihaia.gxzw201804015

金槐和米槐主流品种花粉形态研究

史艳财，韦宇静，邹蓉*，唐健民，蒋运生，熊忠臣
（广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所，广西 桂林 541006）

摘要：本研究以 6 个金槐品种和 2 个米槐品种的花粉为材料，采用美国卡尔蔡司 EVO18 扫描电镜对其极面、赤道面、外壁纹饰等形态特征进行了观察，并对金槐、米槐品种间的亲缘关系进行了分析。结果表明：金槐和米槐花粉的共有特征包括：极面观为三裂圆形，极面光滑；具 3 孔沟，沟较窄且达两极；沟缘中部外凸，具颗粒状突起；沟在极面上没有交会，形成宽大的沟界极区；金槐的花粉粒为长球形，金槐 J6 的极轴最长，金槐 J2 的极轴最短，极轴长/赤道轴长表现的规律与极轴长相一致；网眼直径最大的是金槐 J2，最小的是金槐 J5；网眼密度最大的是金槐 J6，最小的是金槐 J2；米槐的花粉粒为近圆球形，极轴长和极轴长/赤道轴长明显小于金槐，但其赤道轴长大于金槐；双季米槐的赤道轴长、极轴长、极轴长/赤道轴长、网眼密度都小于单季米槐；8 个品种可分为 3 组，其中金槐 J4、金槐 J1 和金槐 J6 3 个品种亲缘关系较近，金槐 J5、金槐 J3 和金槐 J2 3 个品种亲缘关系较近，单季米槐和双季米槐 2 个品种亲缘关系较近；花粉形态是鉴别金槐和米槐两大类品种的重要根据，并可为进一步的品种划分提供重要依据。

关键词：金槐，米槐，花粉，扫描电镜，亲缘关系
中图分类：Q938 **文献标识码：**A

Observation on pollen morphology of main varieties of *Sophora japonica* ‘Jinhuai’ and *Sophora japonica* ‘Mihuai’

SHI Yancai, WEI Yujing, ZOU Rong*, TANG Jianmin,
JIANG Yunsheng, XIONG Zhongchen
(*Guangxi Institute of Botany*, *Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences*, Guilin 541006, Guangxi, China)

Abstract: The pollen morphology of 6 *Sophora japonica* ‘Jinhuai’ and 2 *Sophora japonica* ‘Mihuai’ were observed by scanning electron microscopy (SEM), and the relationship was analyzed. The results showed that the

---

基金项目：广西青年科学自然基金项目（2017GXNSFBA198011）；农业科技成果转化资金项目（桂科转 1222017-13）；中央财政林业科技推广示范资金其他项目（【2013】TG12 号）；广西科学院基本科研业务费项目（2017YJJ23010）。[Supported by Natural Science Foundation of Guangxi(2017JXNSFBA198011); Agricultural Scientific and Technological Achievements Transformation Fund Project(Guikezhuan1222017-13); Central Government Forestry Science and Technology Promotion Demonstration Funds(【2013】TG12); Basic Business Expenses Program of Guangxi Academy of Sciences(2017YJJ23010)]。

作者简介：史艳财（1984-），男，山西孝义人，博士，副研究员，主要从事药用植物良种选育研究，（E-mail）shiyancainan@163.com。
***通信作者：**邹蓉，学士，助理研究员，主要从事濒危植物保护学研究，（E-mail）568852444@qq.com。

common characteristics of the pollen of *Sophora japonica* 'Jinhuai' and *Sophora japonica* 'Mihuai' included: the polar surface was three - lobed round and the polar surface was smooth; three narrow hole groove reaching two poles; middle part of the groove edge was convex and granular protrusions; the groove did not meet on the polar surface, forming a wide trench boundary. The pollen of *S. japonica* 'Jinhuai' are nearly spherical, the polar axis of Jinhuai J6 is longest, and JinhuaiJ2 is shortest, the law of polar axis/equator axis is consistent with polar axis. The diameter of the mesh of JinhuaiJ2 is largest, Jinhuai J5 is smallest; Mesh density of JinhuaiJ6 is largest, Jinhuai J2 is smallest; The pollen grains of *S. japonica* 'Mihuai' are nearly spherical, and the polar axis/equator axis is significantly smaller than that of *S. japonica* 'Jinhuai', but the equatorial axis is larger than that of *S. japonica* 'Jinhuai'. The equatorial axis, polar axis, polar axis/equator axis and mesh density of *S. japonica* 'Shuangjimihuai' are lower than those of *S. japonica* 'Danjimihuai'. The 8 varieties could be divided into 3 groups, Jinhuai J4, JinhuaiJ1 and JinhuaiJ6 are closely related to each other, JinhuaiJ5, JinhuaiJ3 and Jinhuai J2 are closely related to each other, Shuangjimihuai and Danjimihuai are closely related to each other. Pollen morphology is an important character for identifying *S. japonica* 'Jinhuai' and *S. japonica* 'Mihuai', and it can be an important basis for further classification of varieties.

Key Words: *Sophora japonica* 'Jinhuai', *Sophora japonica* 'Mihuai', pollen, SEM, relative relationships

豆科槐属植物槐树(*Sophora japonica*)的干燥花蕾被称为槐米，是一种富含芦丁、黄碱素等成分的特色中药材（杨娜等，2015）。目前，山西运城市和广西全州县是我国槐米的主产区，槐米产量占全国总量的 80%以上。广西全州县凭借其独特的土质、气候等自然条件孕育了独特的金槐种质资源，生产的槐米被称为金槐米（槐米呈金黄色而得名），其芦丁含量高达 35%~40%，远高于山西米槐芦丁含量（15%~25%）和《中国药典》（2005 年版）15%的标准限度（李锋等，2009；舒文将等，2017）。目前，科研人员已从野生金槐种质资源中选育出 6 个金槐良种在广西推广种植。相对而言，山西的品种较为单一，主要是单季米槐和双季米槐两个品种。近年来，商品性引种日益频繁，经常出现一个种植园中米槐、金槐混种的现象，而以上品种的划分主要是依据生物学性状、开花物候、产量等方面的细微差别，品种间的区分度较低，部分品种划分甚至还存在一定的争议。此外，不同品种长期混种，势必会产生种间杂交，加剧品种间鉴定的难度。因此，从孢粉学等其他角度对槐米主流品种的亲缘关系、起源和演化等进行研究具有非常重要的意义。

花粉在植物生长发育过程中出现的最晚，生活期较短，受环境因子影响较小，形态特征与其遗传特性高度相关，可为植物起源、分类、演化等研究提供有力证据，有助于解决植物在分类系统上的地位问题（刘鹏等，2015；唐艳等，2018a，2018b；史小花等，2018）。此外，花粉微观分析操作简单、周期短、可靠性强。因此，花粉形态分析已在植物品种和物种鉴定中广泛应用。国内已对槐属的花粉形态进行了初步研究，如赵燕等（2007）对国槐及其变种（龙爪槐）和变异（聊红槐、蝴蝶槐）类型的花粉形态进行了比较研究，杨德奎等（2005）对山东槐属 3 种 1 变型的花粉形态进行了研究，刘德光等（2007）对香花槐与刺槐的花粉形态进行了比较。但以上研究所涉及的仅是槐属的少数变种和变异类型，且都是观赏树种，而对槐米生产的主流品种金槐和米槐花粉形态的研究还未见报道。因此，本研究旨在从花粉形态特征角度对金槐、米槐进行分析，为不同品种的分类鉴定、遗传演化及亲缘关系研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

本研究所用的金槐（6 个品种）和米槐（2 个品种）的花粉采自广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所种质资源圃和山西省运城市盐湖区双季米槐种植核心示范区，共计 8 份材料（表 1）。

选择生长健壮、无病虫害的植株，于盛花期采集树冠外围中上部的即将开放的花蕾，装于纸质样品袋中，置于装有硅胶的封口袋中常温保存。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 花粉扫描电镜观察

采用消毒的竹牙签挑取少量的花粉撒于粘有导电胶的样品台上，在离子溅射仪上进行真空喷金镀膜，然后在扫描电镜下进行观察。选择典型、清晰的视野进行观察、拍照。采用 AxioVision Rel.4.8 软件测量花粉的极轴长、赤道轴长、网眼直径以及网眼密度。

1.2.2 花粉定量特征统计

每份材料选取 20 粒代表性的花粉粒进行数据统计。采用 SPSS20.0 软件对极轴长、赤道轴长、网眼直径以及网眼密度 4 个定量特征数据进行标准化，并进行系统聚类分析。

2 结果与分析

2.1 花粉性状

金槐的花粉粒为长球形，米槐的花粉粒为近圆球形，两者的共有特征包括：极面观为三裂圆形，极面光滑。具 3 孔沟，沟较窄且达两极，沟缘中部外凸，具颗粒状突起。沟在极面上没有交会，形成宽大的沟界极区（图 1 和图 2）。

2.2 花粉的大小

金槐花粉以单粉粒形式存在，花粉粒为长球形，金槐 J6 的极轴最长，为 20.64 μm，金槐 J2 的极轴最短，为 18.92 μm；极轴长/赤道轴长表现的规律与极轴相一致，都为金槐 J6 最大，金槐 J2 最小。

米槐花粉粒为圆球形，极轴长和极轴长/赤道轴长明显小于金槐品种，但其赤道轴长大于金槐花粉。此外，双季米槐的赤道轴长、极轴长、极轴长/赤道轴长都小于单季米槐（表 1）。

2.3 花粉的外壁纹饰

金槐和米槐花粉的外壁纹饰都为网状纹饰，呈圆形或近圆形，由网眼和凸起的网脊组成。金槐的花粉中，网眼直径最大的是金槐 J2，为 0.45 μm，最小的是金槐 J5，为 0.24 μm；网眼密度最大的是金槐 J6，为 6.22 个•μm^{-2}，网眼最小的是金槐 J2，为 2.21 个•μm^{-2}。

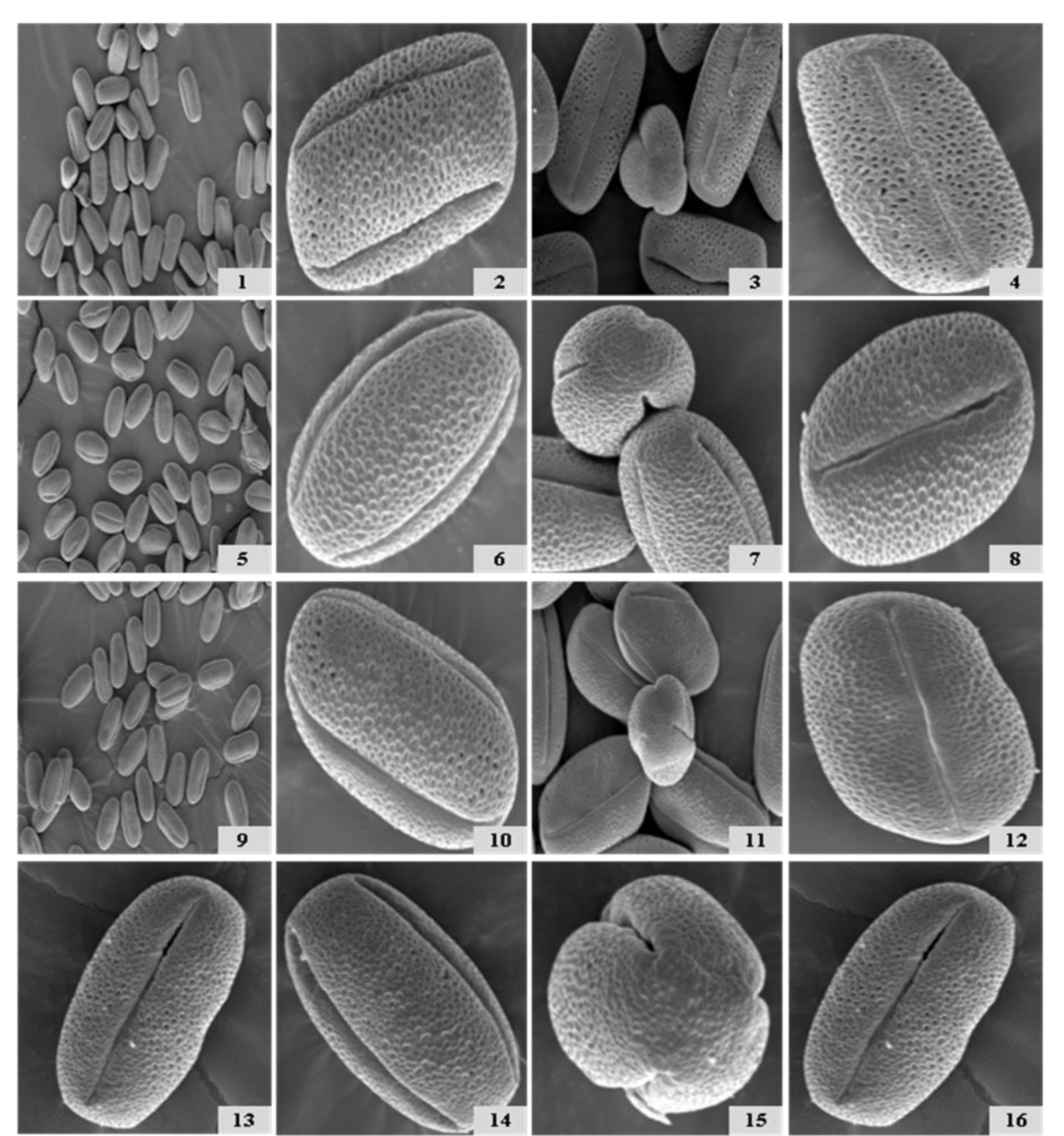
米槐花粉网眼直径明显小于金槐，且单季米槐和双季米槐的花粉的网眼直径基本一致，都为 0.21 μm；双季米槐的网眼密度小于单季米槐（表 1）。

表 1 试验材料及花粉电镜扫描形态特征

Table 1 Test sample and pollen morphology under SEM

编号 Code	资源 Germplasm	极轴长 Polar axis (μm)	赤道轴长 Equator axis (μm)	极轴长/赤道轴长 Polar axis/ Equator axis	网眼直径 Mesh ridge width (μm)	网眼密度 Mesh density (个•μm^{-2})
1	金槐 J1 Jinhuai J1	19.83	10.13	1.95	0.42	4.6
2	金槐 J2 Jinhuai J2	18.92	10.78	1.75	0.45	2.21
3	金槐 J3 Jinhuai J3	19.92	10.17	1.95	0.32	2.43

4	金槐 J4 Jinhuai J4	20.02	10.64	1.88	0.28	4.7
5	金槐 J5 Jinhuai J5	19.37	10.38	1.86	0.24	3.45
6	金槐 J6 Jinhuai J6	20.64	10.23	2.01	0.27	6.22
7	单季米槐 Danjimihuai	14.11	12.59	1.12	0.21	7.72
8	双季米槐 Shuangjimihuai	12.03	11.78	1.02	0.21	6.71

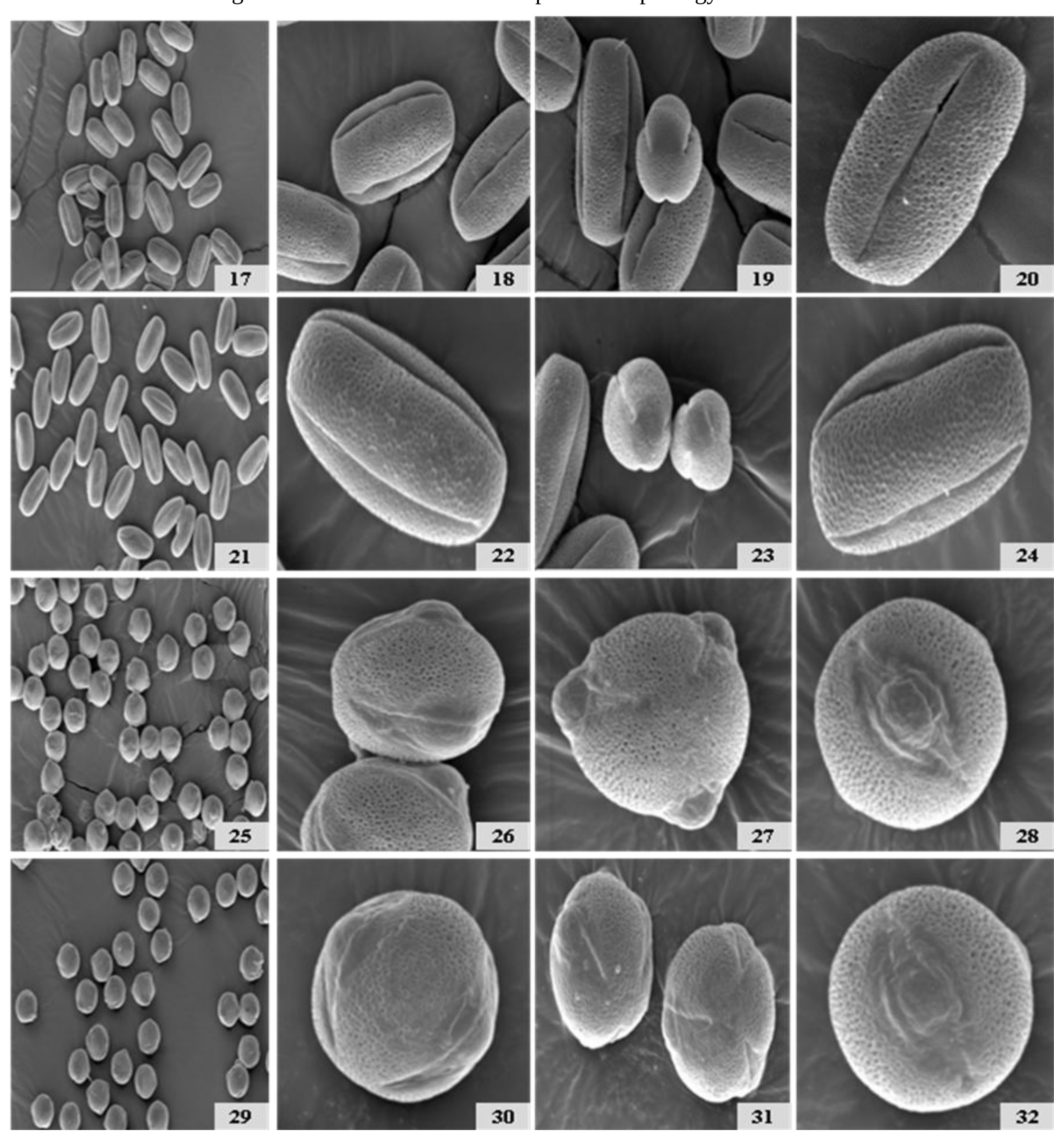


注：**1-4**. 金槐 J1；**5-8**. 金槐 J2；**9-12**. 金槐 J3；**13-16**. 金槐 J4。每个物种花粉扫描电镜结果依次为群体，×800，赤道面观，×3 000，极面观，×3 000，孔沟，×3 000。

Note: **1-4**. Jinhuai J1; **5-8**. Jinhuai J2; **9-12**. Jinhuai J3; **13-16**. Jinhuai J4. The SEM observation results of pollen morphology every specie were pollen grain view, ×800, equatorial view, ×3 000, polar view, ×3 000, colporate, ×3 000.

图 1 试验材料花粉扫面电镜观察结果

Fig.1 SEM observation results of pollen morphology



注：**17-20**. 金槐 J5；**21-24**. 金槐 J6；**25-28**. 单季米槐；**29-32**. 双季米槐。每个物种花粉扫描电镜结果依次为群体，×800，赤道面观，×3 000，极面观，×3 000，孔沟，×3 000。

Note: **17-20**. Jinhuai J5; **21-24**. Jinhuai J6; **25-28**. Danjimihuai; **29-32**. Shuangjimihuai. The SEM observation results of pollen morphology every specie were pollen grain view, ×800, equatorial view, ×3 000, polar view, ×3 000, colporate, ×3 000.

图 2 试验材料花粉扫面电镜观察结果

Fig.2 SEM observation results of pollen morphology

2.4 聚类结果分析

基于不同品种的花粉性状，采用 SPSS 软件对 8 个品种进行了系统聚类分析，结果如图 3 所示。8 个品种可以分为 3 组，第一组包括金槐 J4、金槐 J1 和金槐 J6 3 个品种；第二组包括金槐 J5、金槐 J3 和金槐 J2 3 个品种；第三组包括单季米槐和双季米槐两个品种。

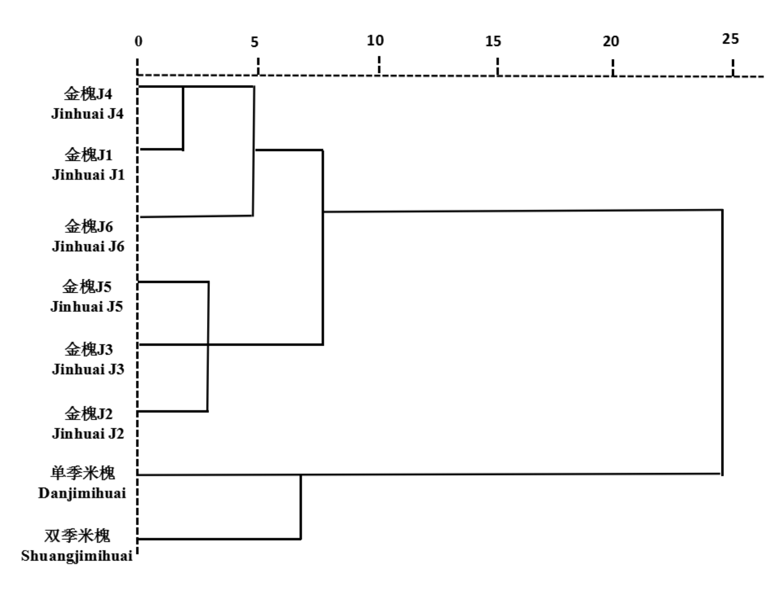


图 3 基于花粉形态的聚类图

Fig.3 Dendrogram of cluster analysis based on pollen morphological

3 讨论与结论

研究表明，植物花粉具有科、属的共同特征。本研究显示，金槐、米槐花粉极面观为三裂圆形，极面光滑。具 3 孔沟，沟较窄且达两极，沟缘中部外凸，具颗粒状突起。沟在极面上没有交会，形成宽大的沟界极区，这些反映了其科内的共有属性，该结果与其他研究结果相一致（杨德奎等，2005；赵燕等，2007）。于此同时，各种植物花粉的性状千变万化，构造各不相同，因而花粉的形态特征是鉴定植物属、种的主要依据（罗乐等，2017）。本研究中，金槐的花粉全部为长球形，而米槐的花粉粒为近圆球形，除赤道轴长大于金槐花粉外，极轴长、极轴长/赤道轴长、网眼直径、网眼密度都明显小于金槐品种。因此，除生物学性状特征外，花粉性状也是区别金槐、米槐两类品种的主要特征。

花粉外壁纹饰是表征花粉进化程度的一个重要指标，一般是由简单平滑向复杂粗糙进化，常见的进化方向是龟裂状→孔穴或小沟→颗粒状突起→棒刺状→网状、皱波状及条纹状（Walker，1974）。花粉的进化途径通常是较原始的花粉为大型、网眼大，较进化的花粉为小型、网眼小。本研究显示，金槐和米槐花粉的外壁纹饰都为网状纹饰，呈圆形或近圆形，由网眼和凸起的网脊组成。因此，本研究中的 8 个品种属较为进化的类群。此外，8 个品种中单季和双季米槐的花粉最小，金槐 J5、金槐 J3 和金槐 J2 3 个品种中等，金槐 J4、金槐 J1 和金槐 J6 3 个品种最大，由此推测单季和双季米槐最为进化（双季米槐较单季米槐进化），金槐 J5、金槐 J3 和金槐 J2 3 个品种较为进化，金槐 J4、金槐 J1 和金槐 J6 3 个品种最为原始。一般而言，植物进化程度越高，其遗传多样性越丰富，越易通过遗传突变等方式形成新的物种。本研究中进化程度最高的米槐仅有两个品种，而相对较为原始的金槐则有 6 个品种，造成这种情况的主要原因可能是由于人为选择过程的不同。广西植物研究所金槐团队长期从事于金槐研究，本研究中所用的 6 个品种是该团队综合不同类型金槐的生物学性特、经济性状等方面的考量从丰富的金槐种质资源中选育而来。而米槐的研究相对较为缓慢，无专业的研究队伍对其种质资源进行系统的梳理、筛选，所用品种都是从以前种植园中直接采穗嫁接而成。由此可知，进化度高的米槐可能孕育有丰富资源，需在以后的研究中对其种质进行深入、系统的整理、挖掘。

花粉形态的相似性可为不同品种间亲缘关系的判断提供依据。基于花粉的极轴长、赤道轴长、极轴长/赤道轴长、网眼直径、网眼密度 5 个性状，金槐和米槐的 8 个品种可以分为 3

组：金槐 J4、金槐 J1 和金槐 J6 3 个品种亲缘关系较近，金槐 J5、金槐 J3 和金槐 J2 3 个品种亲缘关系较近，单季和双季米槐亲缘关系较近。聚类结果表明，米槐与金槐品种的亲缘关系相对较远，两者间存在种质渗透的可能性较小。

不同金槐品种花粉表面的纹饰均为网状纹饰，但不同品种在网眼直径、网眼密度上差异明显，可以作为品种分类依据的重要补充。如，金槐 J4、金槐 J5 和金槐 J6 3 个品种间植物学性状差异较小，不易区分。但根据花粉网眼密度却可以很好的区分：金槐 J6 花粉粒长、极轴长/赤道轴长、网眼密度最大，金槐 J4 次之，金槐 J5 最小。

本研究中花粉形态特征对金槐和米槐的分类及亲缘关系的鉴定提供了一定的依据，但需进一步结合细胞学、解剖学、基因组学等方面进行更加深入的研究。

参考文献：

LI F, TANG H, WEI X, et al, 2009. The current status, problems and development measures of *Golden Sophora japhora* in Quanzhou county of Guangxi [J]. J Guangxi Acad Sci, 25(2):130-134. [李锋，唐辉，韦霄，等, 2009. 广西全州县金槐生产存在的问题及发展对策 [J]. 广西科学院学报, 25(2): 130-134.]

LIU DG, HU HL, TANG SY, et al, 2007. Observation and comparson based scan electron microscope on pollen morphology of *Robinia idaho* with the *Robinia pseudoacacia* Linn[J]. Anhui Agric Sci Bull, 13(22): 14-16. [刘德光，胡蕙露，汤士勇，等，2007. 香花槐与刺槐花粉形态的电镜观察及比较 [J]. 安徽农学通报, 13(22): 14-16.]

LIU P, MA LC, WANG Y, et al, 2015. Observation of pollen morphology of 16 *Vicia* accessions using scanning electron microscopy[J]. Acta Pratac Sin, 24(01): 107-114. [刘鹏，马利超，王宇，等, 2015. 16 种野豌豆属植物花粉形态的扫描电镜观察[J]. 草业学报, 24(01): 107-114.]

LUO L, ZHANG QX, YU C, et al, 2017. Pollen morphology analysis of 29 *Rosa* germplasm [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 37(5): 0885-0894. [罗乐，张启翔，于超，等，2017. 29 个蔷薇属植物的孢粉学研究[J]. 西北植物学报, 37(5): 0885-0894.]

SHI XH, ZOU QC, JIN L, et al, 2018. Comparative research on pollen fertility and morphology of *Helleborus thibetanus*[J]. Molec Plant Breed, 16(5):1690-1697. [史小华，邹清成，金亮，等, 2018. 铁筷子花粉育性与形态比较研究[J]. 分子植物育种, 16(5):1690-1697.]

SHU WL, SHI YC, JIANG YS, et al, 2017. *Sophora japonica* germplasm resources in Guangxi[J]. Chin J Experi Trad Med Form, 23(15):53-59. [舒文将，史艳财，蒋运生，等，2017. 广西槐种质资源调查[J]. 中国实验方剂学杂志, 23(15):53-59.]

TANG Y, WU XX, DENG CL, et al, 2018. Preliminary observation on pollen morphology of Shagan (*Citrus nobilis*) [J]. Guihaia, 38(2): 250-259. [唐艳，武晓晓，邓崇玲，等，2018. 沙柑花粉形态观察研究 [J]. 广西植物, 38(2): 250-259.]

TANG Y, WU XX, DENG CL, et al, 2018. Preliminary observation on pollen morphology of Shagan (*Citrus nobilis*)[J]. Guihaia, 38(2): 250-259. [唐艳，武晓晓，邓崇岭，等，2018. 沙柑花粉形态观察研究[J]. 广西植物, 38(2): 250-259.]

TANG Y, WU XX, LIU BH, et al, 2018. Study on pollen morphology and systematics of wild *Citrus* resources in Guposhan mountain in Guangxi Province[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 38(6): 1065-1071. [唐艳，武晓晓，刘冰浩，等，2018. 广西姑婆山野生柑橘资源花粉形态观察及其系统分类学研究[J]. 西北植物学报, 38(6): 1065-1071.]

WALKER JW, 1974. Evolution of exine structure in the pollen of primitive angiosperms [J]. Am J Bot, 61:891-902.

YANG DK, GUO XY, WANG SE, et al, 2005. Study pollen submicroscopic morphology of *Sophora* L. from Shandong [J]. Guangxi Sci, 12(2): 158-160. [杨德奎，郭小燕，王善娥，等, 2005. 山东槐属植物的花粉亚

显微形态观察[J]. 广西科学, 12（2）: 158-160.]

YANG N, ZHU KM, GU SJ, 2015. The research progress on the extraction method of rutin from *Sophara japonica* L.[J]. Lishizhen Mat Med Res, 21(12): 3340-3341. [杨娜, 朱开梅, 顾生玖, 2015. 从槐米中提取槲皮素方法的研究进展[J]. 时珍国医国药, 21(12): 3340-3341.]

ZHAO Y, HOU GL, ZHANG XS, et al, 2007. A Comparative study on pollen morphology of variety and form of *Sophora japonica* L. in Liaocheng[J]. J Liaocheng Univ (Nat Sci Ed), 20(1): 53-55. [赵燕, 侯桂玲, 张秀省, 等, 2007. 国槐及其变种、变型花粉形态的比较研究[J]. 聊城大学学报(自然科学版), 20(1): 53-55.]